

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



556017

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. November 2004 (18.11.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/099760 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: G01N 15/14

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/004984

(22) Internationales Anmeldedatum:
10. Mai 2004 (10.05.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
103 20 870.4 9. Mai 2003 (09.05.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): EVOTEC TECHNOLOGIES GMBH [DE/DE];
Merowingerplatz 1a, 40225 Düsseldorf (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MÜLLER, Torsten

[DE/DE]; Hartriegelstrasse 39, 12439 Berlin (DE). HUM-
MEL, Stefan [DE/DE]; Deichreihe 37, 25489 Haseldorf
(DE). PFENNIG, Annette [DE/DE]; Driesener Strasse
29, 10439 Berlin (DE).

(74) Anwalt: BEIER, Ralph; v. Bezold & Sozien, Akademies-
trasse 7, 80799 München (DE).

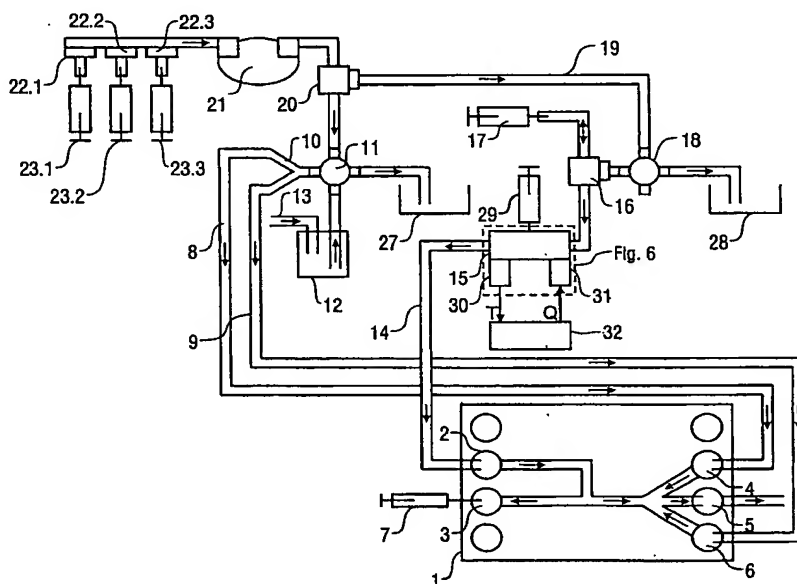
(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: PARTICLE INJECTOR FOR A CELL SORTER

(54) Bezeichnung: PARTIKELINJEKTOR FÜR EINEN ZELLSORTIERER



(57) Abstract: The invention relates to a particle injector (15) for introducing particles into a carrier flow of a microfluidic system, especially for injecting biological cells into the carrier flow of a cell sorter. The particle injector comprises an inlet for receiving the carrier flow, an outlet for discharging the carrier flow comprising the introduced particles, a carrier flow channel which connects the inlet to the outlet, and an injection channel flowing into the carrier flow channel for introducing the particles into the carrier flow. The inventive particle injector is characterized in that the carrier flow channel has substantially no dead volume.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2004/099760 A1



GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft einen Partikelinjektor (15) zur Einbringung von Partikeln in einen Trägerstrom eines mikrofluidischen Systems, insbesondere zur Einspritzung von biologischen Zellen in den Trägerstrom eines Zellsortierers, mit einem Einlass zur Aufnahme des Trägerstroms, einem Auslass zur Abgabe des Trägerstroms mit den eingebrachten Partikeln, einem Trägerstromkanal, der den Einlass mit dem Auslass verbindet, einem in den Trägerstromkanal mündenden Injektionskanal zur Einbringung der Partikel in den Trägerstrom. Es wird vorgeschlagen, dass der Trägerstromkanal im wesentlichen tottraumfrei ist.

BESCHREIBUNG**Partikelinjektor für einen Zellsortierer**

5 Die Erfindung betrifft einen Partikelinjektor zur Einbringung von Partikeln in einen Trägerstrom eines mikrofluidischen Systems, insbesondere zur Einspritzung von biologischen Zellen in den Trägerstrom eines Zellsortierers, gemäß dem Oberbegriff von Anspruch 1.

10

Aus US 5 489 506 ist ein Zellsortierer bekannt, der es ermöglicht, biologische Zellen in einem Trägerstrom dielektrophoretisch zu trennen, wobei die zur Trennung verwendeten dielektrophoretischen Effekte beispielsweise in MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles", Biosensors & Bioelectronics 14 (1999) 247-256 beschrieben sind. Die zu sortierenden biologischen Zellen werden hierbei durch einen Partikelinjektor in den Trägerstrom eingespritzt, wobei der Trägerstrom über einen Einlass in den Partikelinjektor eintritt und diesen zusammen mit den eingespritzten biologischen Zellen über einen Auslass wieder verlässt. Die eigentliche Einspritzung der zu sortierenden biologischen Zellen erfolgt durch eine Injektionsnadel, die durch ein Septum in dem Partikelinjektor durchgestochen und coaxial in den Trägerstrom zwischen dem Einlass und dem Auslass des Partikelinjektors eingeführt wird, so dass die über die Injektionsnadel eingebrachten Zellen von dem Trägerstrom mitgerissen werden.

20
25
30 Nachteilig an diesem bekannten Partikelinjektor ist der Verlust an Zellen, der durch Zellablagerungen in dem Partikelinjektor entsteht. Diese Zellablagerungen können im Extremfall zu einem Zusetzen des Partikelinjektors führen, was die Förderung des Trägerstroms behindert oder gar vollständig zum

Erliegen bringt. Dies kommt bei fluidischen Systemen mit geringen Förderraten von z.B. weniger als 200 $\mu\text{l/h}$ besonders stark zur Wirkung.

- 5 Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, bei dem vorstehend beschriebenen bekannten Partikelinjektor den Verlust an Zellen durch Partikelablagerungen zu minimieren und ein Zusetzen des Partikelinjektors zu verhindern.
- 10 Insbesondere soll ein Partikelinjektor geschaffen werden, der wahlweise eine kontinuierliche oder eine diskontinuierliche Injektion von Partikeln in einem fluidischen Mikrochip ("Lab-on-Chip") ermöglicht, wobei eine lang anhaltende (z.B. im Bereich von Stunden), möglichst gleichmäßige Beladung des Sys-
- 15 tems mit Partikeln erreicht werden soll. Darüber hinaus sollte auch eine Vereinzelung der Partikel gewährleistet sein, was einer störenden Aggregatbildung entgegen wirkt.

- Diese Aufgabe wird, ausgehend von dem vorstehend beschriebenen bekannten Partikelinjektor gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 1, durch die kennzeichnenden Merkmale des Anspruchs 1
- 20 gelöst.

- Zur Verhinderung eines Zusetzens des Partikelinjektors ist
- 25 der Trägerstromkanal zwischen dem Einlass des Partikelinjektors und dem Auslass des Partikelinjektors vorzugsweise tottraumfrei, um ein Festsetzen von Partikeln in dem Strömungskanal zu verhindern.

- 30 Der Trägerstromkanal des Partikelinjektors weist deshalb vorzugsweise eine glatte Innenkontur ohne Vorsprünge oder Vertiefungen auf, die einen laminaren Strömungsverlauf behindern könnten. Bei einer mathematisch idealisierten Betrachtung

weist die Innenkontur des Trägerstromkanals also vorzugsweise eine stetig differenzierbare Oberfläche auf.

Vorzugsweise weist der Trägerstromkanal in dem Partikelinjektor zwischen dem Einlass und dem Auslass sogar einen konstanten Strömungsquerschnitt auf, da jede Querschnittsveränderung in dem Trägerstromkanal ein Festsetzen von Partikeln erleichtert.

10 Der Querschnitt des Trägerstromkanals ist vorzugsweise kreisförmig, jedoch kann der Trägerstromkanal bei dem erfindungsgemäßen Partikelinjektor auch elliptisch oder eckig geformt sein.

15 In dem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung mündet der Injektionskanal für die Einspritzung der Partikel stumpfwinklig und vorzugsweise rechtwinklig in den Trägerstromkanal, so dass der Partikelinjektor auch als T-Injektor bezeichnet werden kann. Vorteilhaft an einer derartigen geometrischen Anordnung des Injektionskanals ist die Tatsache, dass
20 der in dem Trägerstromkanal fließende Trägerstrom die zu injizierenden Partikel mitreißt. Die Erfindung ist jedoch hinsichtlich der geometrischen Anordnung des Injektionskanals nicht auf eine stumpfwinklige Einmündung des Injektionskanals
25 in den Trägerstromkanal beschränkt. Es ist beispielsweise auch möglich, dass der Injektionskanal - wie bei dem eingangs erwähnten US-Patent 5 489 506 - coaxial zu dem Trägerstromkanal verläuft, um die Partikel coaxial in den Trägerstrom einzuspritzen.

30

Bei dem erfindungsgemäßen Partikelinjektor dient der Injektionskanal vorzugsweise nicht nur zur Einspritzung der Partikel, sondern auch zur mechanischen Führung einer Injektionsnadel, die beispielsweise durch ein Septum hindurch gestochen

und in den Injektionskanal eingeführt werden kann. Der Injektionskanal weist deshalb vorzugsweise einen Innendurchmesser auf, der geringfügig größer als der Außendurchmesser der Injektionsnadel ist. Vorzugsweise bildet die Injektionsnadel mit dem Injektionskanal des Partikelinjektors eine Spielpassung oder eine Übergangspassung, um eine gute mechanische Führung der Injektionsnadel zu erreichen.

Das Einführen der Injektionsnadel in den Injektionskanal kann bei dem erfindungsgemäßen Partikelinjektor durch eine Einführhilfe erleichtert werden, die vorzugsweise aus einer trichterförmigen Querschnittserweiterung des Injektionskanals besteht. Vorzugsweise ist die Einführhilfe für die Injektionsnadel in einem separaten Bauteil angeordnet, das mit dem Partikelinjektor lösbar befestigt ist. Beispielsweise kann dieses als Einführhilfe dienende separate Bauteil auf den Partikelinjektor aufgeschraubt oder in sonstiger Weise mit dem Partikelinjektor verbunden werden. Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass die Einführhilfe einstückig an dem Partikelinjektor angeordnet ist, so dass auf ein separates Bauteil als Einführhilfe verzichtet werden kann.

Das vorstehend bereits erwähnte Septum zur Abdichtung des Injektionskanals ist vorzugsweise austauschbar und mehrlagig aufgebaut. Beispielsweise kann das Septum einen Silikonkern aufweisen, der beidseitig mit Teflon beschichtet ist.

Die fluidische Kontaktierung des erfindungsgemäßen Partikelinjektors erfolgt vorzugsweise durch Schläuche, die an dem Einlass bzw. dem Auslass des Partikelinjektors befestigt werden. Bei dieser fluidischen Kontaktierung ist es wünschenswert, dass an der Übergangsstelle zwischen den Schläuchen und dem Trägerstromkanal möglichst keine Querschnittssprünge auftreten, um dort ein Anlagern von Partikeln zu verhindern. Zur

Erleichterung einer korrekten Montage der Schläuche weist der erfindungsgemäße Partikelinjektor deshalb vorzugsweise am Einlass und/oder am Auslass eine Zentrierhilfe auf, damit der Schlauch möglichst koaxial zu dem Trägerstromkanal montiert wird.

Eine derartige Zentrierhilfe kann beispielsweise aus einer im wesentlichen hohlzylindrischen Aufnahme bestehen, die an den Trägerstromkanal angrenzt und koaxial zu dem Trägerstromkanal angeordnet ist, wobei der Innendurchmesser der Aufnahme um die Wandungsstärke der anzuschließenden Leitung größer als der Innendurchmesser des Trägerstromkanals ist. Die Leitung wird hierbei also in die hohlzylindrische Aufnahme eingeschoben, die koaxial zu dem Trägerstromkanal verläuft und dadurch eine entsprechende koaxiale Ausrichtung der Leitung sicherstellt.

In einer Variante der Erfindung erfolgt die Einspritzung der Partikel in den Trägerstromkanal bezüglich der auf den Partikelinjektor wirkenden Schwerkraft von oben nach unten vorzugsweise senkrecht, wobei der Injektionskanal an der Oberseite des Partikelinjektors angeordnet ist. Bei einer derartigen Anordnung des Injektionskanals oberhalb des Trägerstromkanals begünstigt die Wirkung der Schwerkraft die Einbringung der Partikel in den Trägerstromkanal.

Hierbei ist es möglich, dass sich der Querschnitt des Injektionskanals zu dem Trägerstromkanal hin konisch verjüngt, was auch das Einführen einer Injektionsnadel in den Injektionskanal erleichtert. Darüber hinaus hat die konische Verjüngung des Injektionskanals auch eine Trichterfunktion, da die Partikel im unteren Bereich des Injektionskanals zusammenlaufen, so dass keine oder nur wenige Partikel in dem Injektionskanal

hängen bleiben, was eine kontinuierliche Partikelzuführung gewährleistet.

Beispielsweise kann sich der Injektionskanal mit einem Konus-
5 winkel zwischen 5° und 45° zum Trägerstromkanal hin verjün-
gen, wobei beliebige Zwischenwerte möglich sind.

In einer anderen Variante der Erfindung ist der Einlass des
Trägerstromkanals dagegen an der Unterseite des Partikelin-
10 jektors angeordnet, während sich der Auslass des Trägerstrom-
kanals an der Oberseite des Partikelinjektors befindet, so
dass der Trägerstrom von unten nach oben gerichtet ist. Der
Injektionskanal kann hierbei seitlich in den Trägerstromkanal
münden, wobei der Trägerstromkanal vorzugsweise einen Quer-
15 schnitt aufweist, der sich vom Einlass ausgehend zum Auslass
hin erweitert. Beispielsweise kann sich der Trägerstromkanal
mit einem Konuswinkel zwischen 5° und 45° zum Einlass hin ko-
nisch verengen, wobei beliebige Zwischenwerte möglich sind.
Eine derartige Querschnittsverengung des Trägerstromkanals zu
20 dem unten liegenden Einlass hin, ist vorteilhaft, da so einem
Zusetzen des Trägerstromkanals entgegen gewirkt wird. So
könnten Sedimentationseffekte in dem Trägerstromkanal zu Par-
tikelablagerungen im unteren Bereich des Trägerstromkanals
führen. Die Querschnittsverengung im unteren Bereich des Trä-
25 gerstromkanals führt dort jedoch zu einer entsprechenden Er-
höhung der Strömungsgeschwindigkeit, was Sedimentationsabla-
gerungen mit der Gefahr eines Zusetzens weitgehend verhin-
dert.

30 Vorzugsweise weist der Trägerstromkanal zwischen dem Einlass
und dem Auslass ein Volumen auf, das zwischen $0,02 \mu\text{l}$ und
 $5 \mu\text{l}$ liegt, wobei beliebige Zwischenwerte möglich sind. Es
besteht jedoch auch die Möglichkeit, dass das Volumen des
Trägerstromkanals zwischen dem Einlass und dem Auslass zwi-

schen 20 µl und 50 µl liegt, wobei ebenfalls beliebige Zwischenwerte möglich sind. Ferner kann dieses Volumen sogar bis zu 1 ml oder mehr umfassen, so dass im Ergebnis Volumina zwischen 0,02 µl und mehr als 1 ml möglich sind.

5

Weiterhin besteht die Möglichkeit, dass der Injektionskanal von schräg oben in den Trägerstromkanal mündet, wobei der Trägerstromkanal vorzugsweise senkrecht verläuft. Bei einer Durchströmung des Trägerstromkanals von unten nach oben werden dann die suspendierten Partikel nach oben mitgerissen und aus dem Partikelinjektor ausgespült. Der Winkel zwischen dem Injektionskanal und dem Trägerstromkanal kann hierbei beispielsweise zwischen 10° und 80° liegen, wobei beliebige Zwischenwerte möglich sind.

10

15

Darüber hinaus kann in dem Partikelinjektor eine Rührkammer angeordnet sein, in der sich ein Magnetrührstäbchen befindet. Dies ermöglicht es vorteilhaft, den Trägerstrom mit den darin suspendierten Partikeln in der Rührkammer mit einem herkömmlichen Magnetrührgerät zu durchmischen.

20

Hierbei können mehrere Einlässe und/oder mehrere Auslässe für den Trägerstrom parallel nebeneinander angeordnet sein. Darüber hinaus besteht auch die Möglichkeit, dass mehrere Partikeleinlässe vorgesehen sind.

25

Weiterhin kann der erfindungsgemäße Partikelinjektor zwei Trägerstromeinlässe aufweisen, über die zwei Trägerströme zugeführt werden, wobei die beiden Trägerstromeinlässe vorzugsweise in einen einzigen Trägerstromauslass münden. Die beiden Trägerstromeinlässe können hierbei seitlich und einander gegenüber liegend angeordnet sein.

30

Ferner ist es vorteilhaft, wenn der Trägerstromkanal in dem Partikelinjektor zwischen dem Einlass und dem Auslass mäanderförmig geführt ist. Durch die Verengungen und Aufweitungen im Verlauf des Trägerstromkanals wird dem Sedimentieren der Partikel in dem Trägerstromkanal entgegen gewirkt, so dass sich die suspendierten Partikel gleichmäßig und kontinuierlich bewegen.

Ferner ist zu erwähnen, dass der erfindungsgemäße Partikelinjektor vorzugsweise autoklavierbar ist, um eine Sterilisation des Partikelinjektors zu ermöglichen. Als Material für den Partikelinjektor eignet sich deshalb vorzugsweise PEEK, jedoch kann der erfindungsgemäße Partikelinjektor auch aus anderen Materialien bestehen.

Weiterhin ist es vorteilhaft, wenn der Partikelinjektor aus einem wärmeleitfähigen Material besteht, um die Temperatur des Partikelinjektors messen oder beeinflussen zu können. Vorzugsweise ist der Partikelinjektor deshalb mit einem Temperatursensor und/oder mit einem Temperierelement verbunden, wobei das Temperierelement vorzugsweise sowohl eine Beheizung als auch eine Kühlung des Partikelinjektors ermöglicht und beispielsweise aus einem Peltier-Element bestehen kann.

Die Herstellung des erfindungsgemäßen Partikelinjektors kann beispielsweise durch spanabhebende Formungsverfahren oder im Spritzgussverfahren erfolgen, jedoch ist die Erfindung nicht auf diese Herstellungsverfahren beschränkt.

Darüber hinaus umfasst die Erfindung auch ein mikrofluidisches System mit dem erfindungsgemäßen Partikelinjektor, wobei der Partikelinjektor vorzugsweise in einer Trägerstromleitung angeordnet ist, die in einen Zellsortierer mündet.

In einem Ausführungsbeispiel eines derartigen mikrofluidischen Systems können in der Trägerstromleitung hintereinander mehrere erfindungsgemäße Partikelinjektoren angeordnet sein, um nacheinander verschiedene Partikel einspritzen zu können.

5 Hierbei können anstelle von Partikeln über die einzelnen Partikelinjektoren auch jeweils bestimmte Reagenzien oder Reaktionslösungen zugegeben werden.

Ferner ist zu erwähnen, dass der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff eines Partikels allgemein zu verstehen ist und nicht auf einzelne biologische Zellen beschränkt ist. Vielmehr kann der erfindungsgemäße Partikelinjektor mit verschiedenen Partikelarten, insbesondere synthetischen oder biologischen Partikeln, arbeiten. Besondere Vorteile ergeben sich, wenn die Partikel biologische Materialien, also beispielsweise biologische Zellen, Zellgruppen, Zellbestandteile oder biologisch relevante Makromoleküle, jeweils ggf. im Verbund mit anderen biologischen Partikeln oder synthetischen Trägerpartikeln umfassen. Synthetische Partikel können feste Partikel, flüssige, vom Suspensionsmedium abgegrenzte Teilchen oder Mehrphasenpartikel umfassen, die gegenüber dem Suspensionsmedium in dem Trägerstromkanal eine getrennte Phase bilden.

25 Andere vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen gekennzeichnet oder werden nachstehend zusammen mit der Beschreibung der bevorzugten Ausführungsbeispiele der Erfindung anhand der Figuren näher erläutert. Es zeigen:

30 Figur 1 einen Zellsortierer mit einem erfindungsgemäßen Partikelinjektor,
Figuren 2-4 Querschnittsansichten verschiedener alternativer Ausführungsbeispiele des Partikelinjektors,

- Figur 5 eine Seitenansicht einer Einführhilfe zur Erleichterung der Einführung einer Injektionsnadel in die erfindungsgemäßen Partikelinjektoren,
- Figur 6 eine Variante eines mikrofluidischen Systems mit einem erfindungsgemäßen Partikelinjektor,
- Figur 7 ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Partikelinjektors mit einem integrierten Magnetührstäbchen,
- Figur 8 ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Partikelinjektors mit einer abgewinkelten Führung des Trägerstroms,
- Figur 9 ein Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Partikelinjektors, bei dem die Partikel schräg in den Trägerstrom eingespritzt werden,
- Figur 10 ein anderes Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Partikelinjektors mit zwei gegenüber liegenden Trägerstromzuführungen,
- Figur 11 eine perspektivische Darstellung eines erfindungsgemäßen Partikelinjektors sowie
- Figur 12 ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Partikelinjektors mit einer mäanderförmigen Führung des Trägerstromkanals.

Die schematische Darstellung in Figur 1 zeigt einen erfindungsgemäßen Zellsortierer, der mittels eines mikrofluidischen Sortierchips 1 biologische Zellen dielektrophoretisch sortiert.

Die Techniken der dielektrophoretischen Beeinflussung von biologischen Zellen sind beispielsweise in MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles", Biosensors & Bioelectronics 14 (1999) 247-256 beschrieben, so dass im folgenden auf eine detaillierte Beschreibung der dielektrophoretischen Prozesse in dem

Sortierchip 1 verzichtet wird und diesbezüglich auf die vorstehende Veröffentlichung verwiesen wird.

Der Sortierchip 1 weist zur fluidischen Kontaktierung mehrere
5 Anschlüsse 2-6 auf, wobei die fluidische Kontaktierung der Anschlüsse 2-6 in DE 102 13 272 beschrieben ist, deren Inhalt der vorliegenden Beschreibung zuzurechnen ist.

Der Anschluss 2 des Sortierchips 1 dient zur Aufnahme eines
10 Trägerstroms mit den zu sortierenden biologischen Zellen, während der Anschluss 3 des Sortierchips 1 zur Abführung der ausselektierten biologischen Zellen dient, die auf dem Sortierchip 1 nicht weiter untersucht werden. Die ausselektierten biologischen Zellen können von einer Injektionsspritze 7
15 aufgefangen werden, die an den Anschluss 3 des Sortierchips 1 angeschlossen werden kann. Der Ausgang 5 des Sortierchips 1 dient dagegen zur Abführung der interessierenden biologischen Zellen, die anschließend weiter verarbeitet oder untersucht werden können.

20 Ferner dienen die Anschlüsse 4 und 6 des Sortierchips 1 zur Zuführung eines sogenannten Hüllstroms, der die Aufgabe hat, die selektierten biologischen Zellen zu dem Anschluss 5 des Sortierchips 1 zu führen. Hinsichtlich der Funktionsweise des
25 Hüllstroms wird auf die deutsche Patentanmeldung DE 100 05 735 verwiesen, so dass im folgenden auf eine detaillierte Beschreibung der Funktionsweise des Hüllstroms verzichtet werden kann.

30 Die Anschlüsse 4 und 6 des Sortierchips sind über zwei Hüllstromleitungen 8, 9, ein Y-Stück 10 und ein Vier-Wege-Ventil 11 mit einem Druckbehälter 12 verbunden, in dem sich ein Kultivierungsmedium für den Hüllstrom befindet. Anstelle

des Kultivierungsmediums kann sich in dem Druckbehälter 12 jedoch auch ein sogenannter Manipulationsbuffer befinden.

Der Druckbehälter 12 wird über eine Druckluftleitung 13 unter Überdruck gesetzt, so dass das in dem Druckbehälter 12 befindliche Kultivierungsmedium bei einer entsprechenden Stellung des Vier-Wege-Ventils 11 über das Y-Stück 10 und die Hüllstromleitungen 8, 9 zu den Anschlüssen 4, 6 des Sortierchips 1 strömt.

10

Der Anschluss 2 des Sortierchips 1 ist dagegen über eine Trägerstromleitung 14 mit einem Partikelinjektor 15 verbunden, von dem verschiedene alternative Ausführungsbeispiele in den Figuren 2 bis 4 dargestellt sind und später noch detailliert beschrieben werden.

15

Stromaufwärts ist der Partikelinjektor 15 über ein T-Stück 16 mit einer Trägerstromspritze 17 verbunden, die maschinell angetrieben wird und einen vorgegebenen Flüssigkeitsstrom eines Trägerstroms injiziert.

20

Darüber hinaus ist das T-Stück 16 stromaufwärts über ein weiteres Vier-Wege-Ventil 18 und eine Hüllstromleitung 19 mit einem Drei-Wege-Ventil 20 verbunden. Das Drei-Wege-Ventil 20 ermöglicht eine Spülung der Hüllstromleitungen 8, 9 sowie der Trägerstromleitung 14 vor dem eigentlichen Betrieb.

25

Hierzu ist das Drei-Wege-Ventil 20 stromaufwärts über eine Peristaltikpumpe 21 mit drei Drei-Wege-Ventilen 22.1-22.3 verbunden, an die jeweils ein Spritzenreservoir 23.1-23.3 angeschlossen ist. Die Spritzenreservoirs 23.1-23.3 dienen hierbei zur Zuführung eines Füllstroms zum Spülen des gesamten Fluidiksystems vor dem eigentlichen Betrieb, wobei das Spritzenreservoir 23.1 70% Ethanol enthält, während das

30

Spritzenreservoir 23.2 als Füllstromsubstanz Aqua destillata enthält. Das Spritzenreservoir 23.3 enthält schließlich eine Pufferlösung als Füllstromsubstanz, wobei als Füllstromsubstanz alternativ auch eine andere Manipulationslösung verwendet werden kann, wie beispielsweise eine physiologische Salzlösung.

10 Ferner weist der Zellsortierer einen Auffangbehälter 27 für überschüssigen Hüllstrom sowie einen Auffangbehälter 28 für überschüssigen Füllstrom auf.

Im folgenden wird zunächst der Spülvorgang beschrieben, der vor dem eigentlichen Betrieb des Zellsortierers durchgeführt wird, um die Hüllstromleitung 8, 9, die Trägerstromleitung 14 und das restliche Fluidiksystem des Zellsortierers von Luftblasen und Verunreinigungen zu befreien.

Hierzu wird zunächst das Drei-Wege-Ventil 22.1 geöffnet und Ethanol von dem Spritzenreservoir 23.1 als Füllstrom eingespritzt, wobei das Ethanol von der Peristaltikpumpe 21 zunächst zu dem Drei-Wege-Ventil 20 gefördert wird. Während des Spülvorgangs ist das Drei-Wege-Ventil 20 so eingestellt, dass ein Teil des von der Peristaltikpumpe 21 geförderten Füllstroms über die Füllstromleitung 19 weiter geleitet wird, während der restliche Teil des von der Peristaltikpumpe 21 geförderten Füllstroms zu dem Vier-Wege-Ventil 11 gelangt. Die beiden Vier-Wege-Ventile 11, 18 sind wiederum so eingestellt, dass der Füllstrom durch die Hüllstromleitungen 8, 9 und die Trägerstromleitung 14 durchgeleitet wird. Weiterhin fließt Kultivierungsmedium aus dem Druckbehälter 12 in den Auffangbehälter 27, um die Leitungen kurz zu fluten.

Nach der vorstehend beschriebenen Spülung des Zellsortierers mit Ethanol erfolgt in der gleichen Weise eine Spülung mit

Aqua destillata bzw. Pufferlösung, wobei jeweils die Drei-Wege-Ventile bzw. 22.2 bzw. 22.3 geöffnet werden.

Bei dem vorstehend beschriebenen Spülvorgang kann überschüssiger Füllstrom von dem Vier-Wege-Ventil 18 in den Auffangbehälter 28 abgeleitet werden.

Nach dem Spülvorgang werden die Drei-Wege-Ventile 22.1-22.3 geschlossen und die Peristaltikpumpe 21 abgeschaltet.

10

Zur Einleitung des Sortierbetriebs wird das Vier-Wege-Ventil 11 so eingestellt, dass der Druckbehälter 12 mit dem Y-Stück 10 verbunden wird, so dass das in dem Druckbehälter 12 befindliche Kultivierungsmedium aufgrund des in dem Druckbehälter 12 herrschenden Überdrucks in die Hüllstromleitungen 8, 9 gedrückt wird.

Weiterhin wird während des Sortierbetriebs das Vier-Wege-Ventil 18 so eingestellt, dass keine Strömungsverbindung zwischen dem T-Stück 16 und dem Vier-Wege-Ventil 18 besteht.

Der von der Trägerstromspritze 17 eingespritzte Trägerstrom fließt dann über das T-Stück 16 in den Partikelinjektor 15, wobei durch eine weitere Injektionsspritze 29 biologische Zellen in den Trägerstrom eingespritzt werden. Anschließend fließt der Trägerstrom mit den injizierten biologischen Zellen von dem Partikelinjektor 15 über die Trägerstromleitung 14 zu dem Anschluss 2 des Sortierchips.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass an dem Partikelinjektor 15 ein Temperatursensor 30 angebracht ist, um die Temperatur T des Partikelinjektors 15 zu messen.

Darüber hinaus befindet sich an dem Partikelinjektor 15 ein Temperierelement 31 in Form eines Peltier-Elements, um den Partikelinjektor 15 beheizen oder abkühlen zu können.

- 5 Die Heiz- bzw. Kühlenergie Q wird hierbei von einem Temperaturregler 32 vorgegeben, der eingangsseitig mit dem Temperatursensor 30 verbunden ist und die Temperatur T des Partikelinjektors 15 auf einen vorgegebenen Sollwert einregelt.
- 10 Im folgenden wird nun das in Figur 2 dargestellte Ausführungsbeispiel des Partikelinjektors 15 beschrieben.

Der Partikelinjektor 15 weist einen Grundkörper 33 aus PEEK auf, der autoklavierbar ist somit eine einfache und/oder
15 mehrfache Sterilisation ermöglicht.

Zur Aufnahme des Trägerstroms weist der Partikelinjektor 15 einen Einlass 34 mit einem Innengewinde 35 auf, in das ein Schraubflansch eines Anschlussschlauchs 36 eingeschraubt werden kann, wobei der Schraubflansch zur Vereinfachung nicht
20 dargestellt ist.

Zur Abgabe des Trägerstroms mit den injizierten biologischen Zellen weist der Partikelinjektor 15 einen Auslass 37 mit einem Innengewinde 38 auf, in das ebenfalls ein Schraubflansch eines Anschlussschlauchs 39 eingeschraubt werden kann, wobei der Schraubflansch des Anschlussschlauchs 39 zur Vereinfachung ebenfalls nicht dargestellt ist.

30 Zur Erleichterung der Montage der beiden Schläuche 36, 39 weist der Partikelinjektor 15 jeweils eine Zentrierhilfe 40, 41 auf, die aus einer zylindrischen Aufnahme besteht und an den Einlass 34 bzw. 37 angrenzt. Zwischen den beiden Zentrierhilfen 40, 41 verläuft hierbei ein Trägerstromkanal 42

koaxial zu den beiden Zentrierhilfen 40, 41, wobei der Innendurchmesser der beiden Zentrierhilfen 40, 41 um die Wandungsdicke der beiden Anschlussschläuche 36, 39 größer ist als der Innendurchmesser des Trägerstromkanals 42. Bei der Montage der Anschlussschläuche 36, 39 werden diese also in den Zentrierhilfen 40, 41 so platziert, dass an der Stoßstelle zwischen den Schläuchen 36, 39 und dem Trägerstromkanal 42 keine Sprünge auftreten, was ein Zusetzen des Trägerstromkanals 42 weitgehend verhindert.

In den Trägerstromkanal 42 mündet rechtwinklig zu dem Trägerstromkanal 42 ein Injektionskanal 43, in den zur Einspritzung biologischer Zellen eine Injektionsnadel der Injektionsspritze 29 eingeführt werden kann, wobei die Injektionsnadel der Injektionsspritze 29 ein Septum 44 durchstößt.

Figur 3 zeigt ein alternatives Ausführungsbeispiel eines Injektors 15', das weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 2 dargestellten Ausführungsbeispiel übereinstimmt. Zur Vermeidung von Wiederholungen wird deshalb nachfolgend auf die vorstehend beschriebene Beschreibung zu Figur 2 verwiesen, wobei für entsprechende Teile dieselben Bezugszeichen wie in Figur 2 verwendet werden, die zur Unterscheidung lediglich durch einen Apostroph gekennzeichnet sind.

Eine Besonderheit des Partikelinjektors 15' besteht darin, dass der Einlass 34' für den Trägerstrom an der Unterseite des Partikelinjektors 15' angeordnet ist, während sich der Auslass 37' für den Trägerstrom mit den injizierten biologischen Zellen an der Oberseite des Partikelinjektors 15' befindet. Der Trägerstrom verläuft also in dem Partikelinjektor 15' senkrecht von unten nach oben, wobei der Injektionskanal 43' seitlich in den Trägerstromkanal 42' mündet.

Eine weitere Besonderheit des Partikelinjektors 15' besteht darin, dass sich der Querschnitt des Trägerstromkanals 42' von oben nach unten verjüngt, so dass die Strömungsgeschwindigkeit des Trägerstroms in dem Trägerstromkanal 42' entsprechend von oben nach unten zunimmt. Durch diese Zunahme der Strömungsgeschwindigkeit in dem Trägerstromkanal 42' werden Sedimentationsablagerungen an der Unterseite des Trägerstromkanals 42' entgegengewirkt.

Hierbei besteht auch die Möglichkeit, dass am unteren Ende der trichterförmigen Verengung des Injektionskanals 43' knapp oberhalb des Trägerstromkanals 42' ein Ventil angeordnet ist, was eine diskontinuierliche Partikelzuführung ermöglicht.

Figur 4 zeigt ein weiteres alternatives Ausführungsbeispiel eines Partikelinjektors 15'', das ebenfalls weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 2 gezeigten Partikelinjektor 15 übereinstimmt. Zur Vermeidung von Wiederholungen wird deshalb auch im folgenden weitgehend auf die vorstehende Beschreibung zu Figur 2 verwiesen, wobei für entsprechende Teile dieselben Bezugszeichen verwendet werden, die lediglich zur Unterscheidung durch zwei Apostrophe gekennzeichnet sind.

Eine Besonderheit des Partikelinjektors 15'' besteht darin, dass sich der Querschnitt des Injektionskanals 43'' zu seiner Mündungsöffnung nach oben hin erweitert, so dass die Injektionsnadel der Injektionsspritze 29 leichter eingeführt werden kann.

Darüber hinaus hat die konische Verjüngung des Injektionskanals 43'' auch eine Trichterfunktion, da die Partikel im unteren Bereich des Injektionskanals 43'' zusammenlaufen, so

dass keine oder nur wenige Partikel in dem Injektionskanal 43'' hängen bleiben, was eine kontinuierliche Partikelzuführung gewährleistet.

- 5 Die Querschnittserweiterung des Injektionskanals 43'' bietet darüber hinaus den Vorteil, dass der Injektionskanal 43'' ein zusätzliches Injektionsvolumen im Bereich von 5-100 µl aufweist.
- 10 Schließlich zeigt Figur 5 eine exemplarische Einführhilfe 45 für die Injektionsnadel der Injektionsspritze 29, wobei die Einführhilfe 45 als separates Bauteil ausgebildet ist. Die Einführhilfe 45 weist an ihrer Unterseite einen zylindrischen Abschnitt 46 mit einem Außengewinde 47 auf, das in ein ent-
- 15 sprechendes Innengewinde der Partikelinjektoren 15' bzw. 15'' angeschraubt werden kann, um die Einführhilfe 45 an dem Partikelinjektor 15' bzw. 15'' zu befestigen.

Das Einschrauben der Einführhilfe 45 erfolgt hierbei manuell

20 über eine Rändelung 48, die an einem oberen Abschnitt der Einführhilfe 45 angebracht ist.

In der Einführhilfe befindet sich eine Fortsetzung 49 des Injektionskanals 43 bzw. 43', die an ihrer Oberseite in eine

25 trichterförmige Erweiterung 50 übergeht, um das Einführen der Injektionsnadel der Injektionsspritze 29 zu erleichtern.

Figur 6 zeigt schließlich eine Abwandlung des in Figur 1 gestrichelt umrandeten Bereichs, so dass im folgenden zur Ver-

30 meidung von Wiederholungen weitgehend auf die Beschreibung zu Figur 1 verwiesen wird. Darüber hinaus werden für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet, die zur Vermeidung von Wiederholungen lediglich durch zusätzliche Indizes gekennzeichnet sind.

Eine Besonderheit dieser Abwandlung besteht darin, dass in der Trägerstromleitung 14' hierbei hintereinander drei Partikelinjektoren 15.1-15.3 angeordnet sind, so dass drei verschiedene Partikel in den Trägerstrom eingespritzt werden können.

Figur 7 zeigt ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Partikelinjektors 51 mit einem Einlass 52 zur Aufnahme eines Trägerstroms und einem Auslass 53 zur Abgabe des Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln.

Der Einlass 52 mündet in dem Partikelinjektor 51 in eine Rührkammer 54, in der sich ein Magnetührstübchen befindet, das zur Vereinfachung nicht dargestellt ist. Die in der Rührkammer 54 befindliche Trägerflüssigkeit kann also durch ein herkömmliches Magnetührgerät umgerührt werden, was zu einer guten Durchmischung der Trägerflüssigkeit mit den darin suspendierten Partikeln führt. Die Rührgeschwindigkeit wird hierbei so gewählt, dass die in der Trägerflüssigkeit suspendierten Partikel durch den Rührvorgang nicht beschädigt werden.

Der Partikelinjektor 51 besteht aus einem Unterteil 55 und einem Oberteil 56, wobei die Rührkammer 54 in dem Unterteil 55 angeordnet ist. Das Unterteil 55 ist im montierten Zustand fest mit dem Oberteil 56 verbunden und durch einen dazwischen befindlichen O-Ring abgedichtet.

Die Injektion der Partikel in den Trägerstrom erfolgt über einen Injektionskanal 57, der seitlich neben dem Auslass 53 in die Rührkammer 54 mündet. Der Injektionskanal 57 kann hierbei durch ein Septum verschlossen werden, wie bereits vorstehend beschrieben wurde.

In diesem Ausführungsbeispiel liegt der Einlass 52 für den Trägerstrom an der Unterseite des Partikelinjektors 51, während der Auslass 53 an der Oberseite angeordnet ist, so dass
5 der Trägerstrom den Partikelinjektor 51 von unten nach oben durchströmt.

Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass der Einlass 52 an der Oberseite des Partikelinjektors 51 angeordnet ist, während
10 sich der Auslass 53 an der Unterseite des Partikelinjektors 51 befindet, so dass der Trägerstrom den Partikelinjektor 51 von oben nach unten durchströmt.

Hierbei ist auch eine Parallelisierung möglich und zwischen
15 der Rührkammer 54 und dem Auslass 53 kann ein Ventil angeordnet sein, um eine diskontinuierliche Abgabe zu ermöglichen.

Figur 8 zeigt ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Partikelinjektors 58 mit einem Einlass 59 zur
20 Aufnahme eines Trägerstroms und einem Auslass 60 zur Abgabe des Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln.

Der Einlass 59 ist hierbei auf der linken Seite des Partikelinjektors 58 angeordnet, während sich der Auslass 60 an der
25 Unterseite des Partikelinjektors 58 befindet. Der Trägerstrom wird also in dem Partikelinjektor 58 um 90° nach unten abgelenkt.

Zur Partikelinjektion weist der Partikelinjektor 58 einen Injektionsanschluss 61 auf, der an der Oberseite des Partikelinjektors 58 angeordnet ist und durch ein Septum 62
30 geschlossen wird. Zum Injizieren von Partikeln in den Trägerstrom wird das Septum 62 von einer Injektionsnadel durchstoßen.

Unterhalb des Septums 62 befindet sich in dem Partikelinjektor 58 ein zylindrischer Sedimentationsraum 63, in dem die durch eine schraffierte Wolke 64 dargestellten suspendierten Partikel aufgrund der Schwerkraft nach unten sedimentieren und dort in Abhängigkeit von der Sedimentationsgeschwindigkeit in dem Trägerstrom gelangen. Der Sedimentationsraum 63 kann jedoch alternativ auch konisch ausgebildet sein.

10 Figur 9 zeigt ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Partikelinjektors 65 mit einem Einlass 66 für den Trägerstrom und einem Auslass 67 zur Abgabe des Trägerstroms mit den darin suspendierten Partikeln.

15 Der Einlass 66 für den Trägerstrom befindet sich an der Unterseite des Partikelinjektors 65, während der Auslass 67 an der Oberseite angeordnet ist, so dass der Trägerstrom den Partikelinjektor 65 von unten nach oben durchströmt.

20 Der Einlass 66 ist über einen Trägerstromkanal 68 mit dem Auslass 67 verbunden, wobei in den Trägerstromkanal 68 schräg von oben ein Injektionskanal 69 mündet, der von einem Injektionsanschluss 70 ausgeht, wobei der Injektionsanschluss 70 in der vorstehend beschriebenen Weise durch ein Septum 71
25 verschlossen ist.

Durch den Injektionsanschluss 70 wird eine Partikelsuspension injiziert, die sich in dem langgestreckten Injektionskanal 69 verteilt. Durch die Gravitation beginnen die Partikel abzusinken. Durch den Trägerstrom, der von unten in den Partikelinjektor 65 eintritt und durch die gezeigte Verengung des Trägerstromkanals 68 bildet sich ein Jet heraus, der bereits abgesunkene und andere noch absinkende Partikel aufnimmt und aus dem Partikelinjektor 65 nach oben ausströmt. In dem lang-

gestreckten Trägerstromkanal 68 können je nach Länge und Quermesser die erreichten Trägerstromgeschwindigkeiten und injizierten Volumina variieren.

5 Figur 10 zeigt ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Partikelinjektors 72 mit zwei seitlich angeordneten, einander gegenüber liegenden Einlässen 73, 74 zur Aufnahme von zwei Trägerströmen, wobei die beiden Einlässe 73, 74 in der Mitte des Partikelinjektors 72 in einen senkrecht
10 verlaufenden zylindrischen Injektionskanal 75 münden.

Der Injektionskanal 75 geht von einem an der Oberseite des Partikelinjektors 72 angeordneten Injektionsanschluss 76 aus und mündet an der Unterseite des Partikelinjektors 72 in ei-
15 nen Auslass 77 zur Abgabe des Trägerstroms mit den darin suspendierten Partikeln.

Figur 11 zeigt eine perspektivische Darstellung eines weiteren Ausführungsbeispiels eine erfindungsgemäßen würfelförmigen Partikelinjektors 78 mit einem Einlass 79 zur Aufnahme
20 eines Trägerstroms und einem Auslass 80 zur Abgabe des Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln, wobei der Einlass 79 innerhalb des Partikelinjektors 78 durch einen Trägerstromkanal mit dem Auslass 80 verbunden ist.

25 Der Einlass 79 befindet sich hierbei an der Seite des Partikelinjektors 78 im unteren Drittel, während der Auslass 80 an der Oberseite des Partikelinjektors 78 mittig angeordnet ist.

30 An der Vorderseite des Partikelinjektors 78 befindet sich weiterhin ein Injektionsanschluss 81, über den Partikel in den Trägerstrom injiziert werden können.

Figur 12 zeigt schließlich ein Ausführungsbeispiel eine erfindungsgemäßen Partikelinjektors 82 mit einer mäanderförmigen Führung eines Trägerstromkanals 83 zwischen einem Einlass 84 und einem Auslass 85.

5

In dem mäanderförmig geführten Trägerstromkanal 83 mündet ein Injektionsanschluss 86, über den Partikel in den Trägerstrom injiziert werden können. Durch die Verengungen und Aufweitungen im Verlauf des Trägerstromkanals 83 wird dem Sedimentieren der Partikel in dem Trägerstromkanal 83 entgegen gewirkt, so dass sich die suspendierten Partikel gleichmäßig und kontinuierlich bewegen.

10

Die Erfindung ist nicht auf die vorstehend beschriebenen bevorzugten Ausführungsbeispiele beschränkt. Vielmehr ist eine Vielzahl von Varianten und Abwandlungen möglich, die ebenfalls von dem Erfindungsgedanken Gebrauch machen und deshalb in den Schutzbereich fallen.

15

* * * * *

PATENTANSPRÜCHE

- 5 1. Partikelinjektor (15, 15', 15'') zur Einbringung von Partikeln in einen Trägerstrom eines mikrofluidischen Systems, insbesondere zur Einspritzung von biologischen Zellen in den Trägerstrom eines Zellsortierers, mit
- mindestens einem Einlass (34, 34', 34'') zur Aufnahme des
 - 10 Trägerstroms,
 - mindestens einem Auslass (37, 37', 37'') zur Abgabe des Trägerstroms mit den eingebrachten Partikeln,
 - mindestens einem Trägerstromkanal (42, 42', 42''), der den Einlass (34, 34', 34'') mit dem Auslass (37, 37', 37'') ver-
 - 15 bindet,
 - mindestens einem in den Trägerstromkanal (42, 42', 42'') mündenden Injektionskanal (43, 43', 43'') zur Einbringung der Partikel in den Trägerstrom,
- dadurch gekennzeichnet, dass**
- 20 der Trägerstromkanal (42, 42', 42'') im wesentlichen totraumfrei ist.
2. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Injektionskanal (43, 43', 43'')
- 25 stumpfwinklig in den Trägerstromkanal (42, 42', 42'') mündet.
3. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Injektionskanal (43, 43', 43'') im wesentlichen rechtwinklig in den Trägerstromkanal (42, 42',
- 30 42'') mündet.
4. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Einlass

(34, 34', 34'') und der Auslass (37, 37', 37'') einen im wesentlichen gleich großen Querschnitt aufweisen.

5. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Einlass (34, 34', 34'') und/oder der Auslass (37, 37', 37'') eine Zentrierhilfe (40, 40', 40'', 41, 41', 41'') aufweist, um an dem Einlass (34, 34', 34'') und/oder an dem Auslass (37, 37', 37'') eine Leitung (36, 39) coaxial zu dem Trägerstromkanal (42, 42', 42'') anzubringen.

6. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Zentrierhilfe (40, 40', 40'', 41, 41', 41'') aus einer im wesentlichen hohlzylindrischen Aufnahme besteht, die an den Trägerstromkanal (42, 42', 42'') angrenzt und coaxial zu dem Trägerstromkanal (42, 42', 42'') angeordnet ist, wobei der Innendurchmesser der Aufnahme um die Wandungsdicke der Leitung (36, 39) größer als der Innendurchmesser des Trägerstromkanals (42, 42', 42'') ist.

7. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Injektionskanal (43, 43', 43'') an der Oberseite angeordnet ist.

8. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Injektionskanal (43, 43', 43'') einen Querschnitt aufweist, der sich zu dem Trägerstromkanal (42, 42', 42'') hin verengt.

9. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Trägerstromkanal (42, 42', 42'') einen Querschnitt aufweist, der sich von dem Einlass (34, 34', 34'') ausgehend zu dem Auslass (37, 37', 37'') hin erweitert.

10. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** sich der Einlass (34, 34', 34'') des Trägerstromkanals (42, 42', 42'') an der Unterseite und der Auslass (37, 37', 37'') des Trägerstromkanals (42, 42', 42'') an der Oberseite befindet.

11. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Injektionskanal (43, 43', 43'') eine Einführhilfe (45) für eine Injektionsnadel aufweist.

12. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Einführhilfe (45) eine trichterförmige Querschnittserweiterung (50) des Injektionskanals aufweist.

13. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach Anspruch 11 oder 12, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Einführhilfe (45) aus einem lösbar befestigten separaten Bauteil besteht, in dem eine trichterförmige Einführöffnung (50) angeordnet ist, die im montierten Zustand in den Injektionskanal (43, 43', 43'') mündet.

14. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Trägerstromkanal (42, 42', 42'') eine im wesentlichen absatzfreie Innenkontur aufweist.

15. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Trägerstromkanal (42, 42', 42'') ein Volumen aufweist, das zwischen 0,02µl und 1 ml liegt.

16. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Partikelinjektor (15, 15', 15'') autoklavierbar ist.

5 17. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Partikelinjektor (15, 15', 15'') mindestens teilweise aus Polyetheretherketon, LEXAN®, Keramik oder Metall besteht.

10 18. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Partikelinjektor (15, 15', 15'') mindestens teilweise aus einem wärmeleitfähigen Material besteht.

15 19. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach Anspruch 18, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Partikelinjektor (15, 15', 15'') mit einem Temperatursensor (30) und/oder mit einem Temperierelement (31) verbunden ist.

20 20. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Einlass (34, 34', 34'') und/oder der Auslass (37, 37', 37'') zur Befestigung einer Leitung (36, 39) ein Gewinde (35, 35', 35'', 38, 38', 38'') aufweist.

25

21. Mikrofluidisches System, insbesondere Zellsortierer, mit einem Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche.

30 22. Mikrofluidisches System nach Anspruch 21, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Partikelinjektor (15, 15', 15'') in einer Trägerstromleitung (14) angeordnet ist, wobei die Trägerstromleitung (14) in einen Zellsortierer (1) mündet.

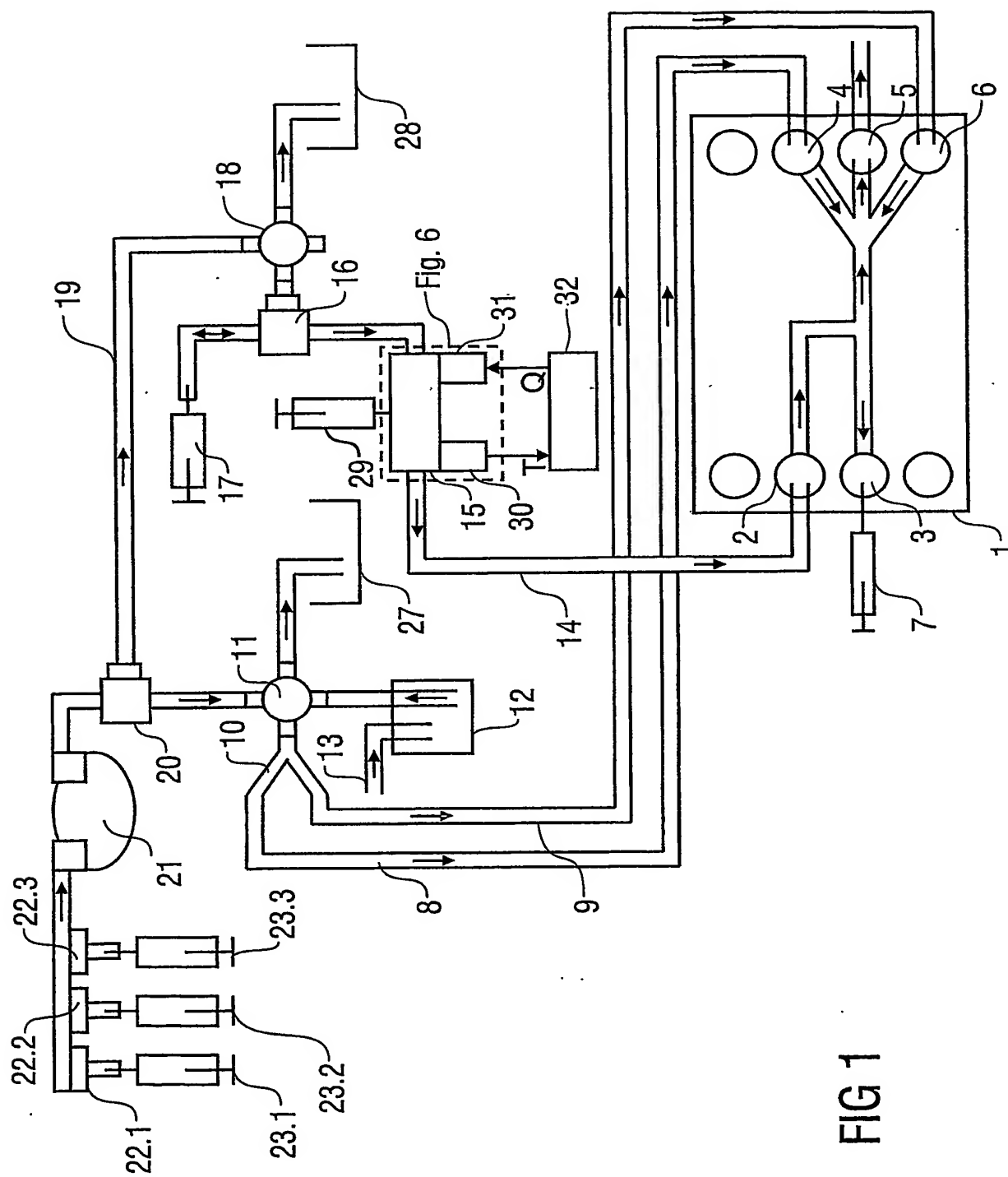
23. Mikrofluidisches System nach Anspruch 21 oder 22, **gekennzeichnet durch** einen Temperatursensor (30) zur Messung der Temperatur des Partikelinjektors (15, 15', 15'').

5 24. Mikrofluidisches System nach einem der Ansprüche 21 bis 23, **gekennzeichnet durch** ein Temperierelement (31) zur Beheizung und/oder Kühlung des Partikelinjektors (15, 15', 15'').

10 25. Mikrofluidisches System nach Anspruch 23 und 23, **gekennzeichnet durch** einen Temperaturregler (32), der eingangsseitig mit dem Temperatursensor (30) und ausgangsseitig mit dem Temperierelement (31) verbunden ist.

15 26. Mikrofluidisches System nach einem der Ansprüche 22 bis 25, **dadurch gekennzeichnet, dass** in der Trägerstromleitung (14') mehrere Partikelinjektoren (15.1-15.3) hintereinander angeordnet sind.

* * * * *



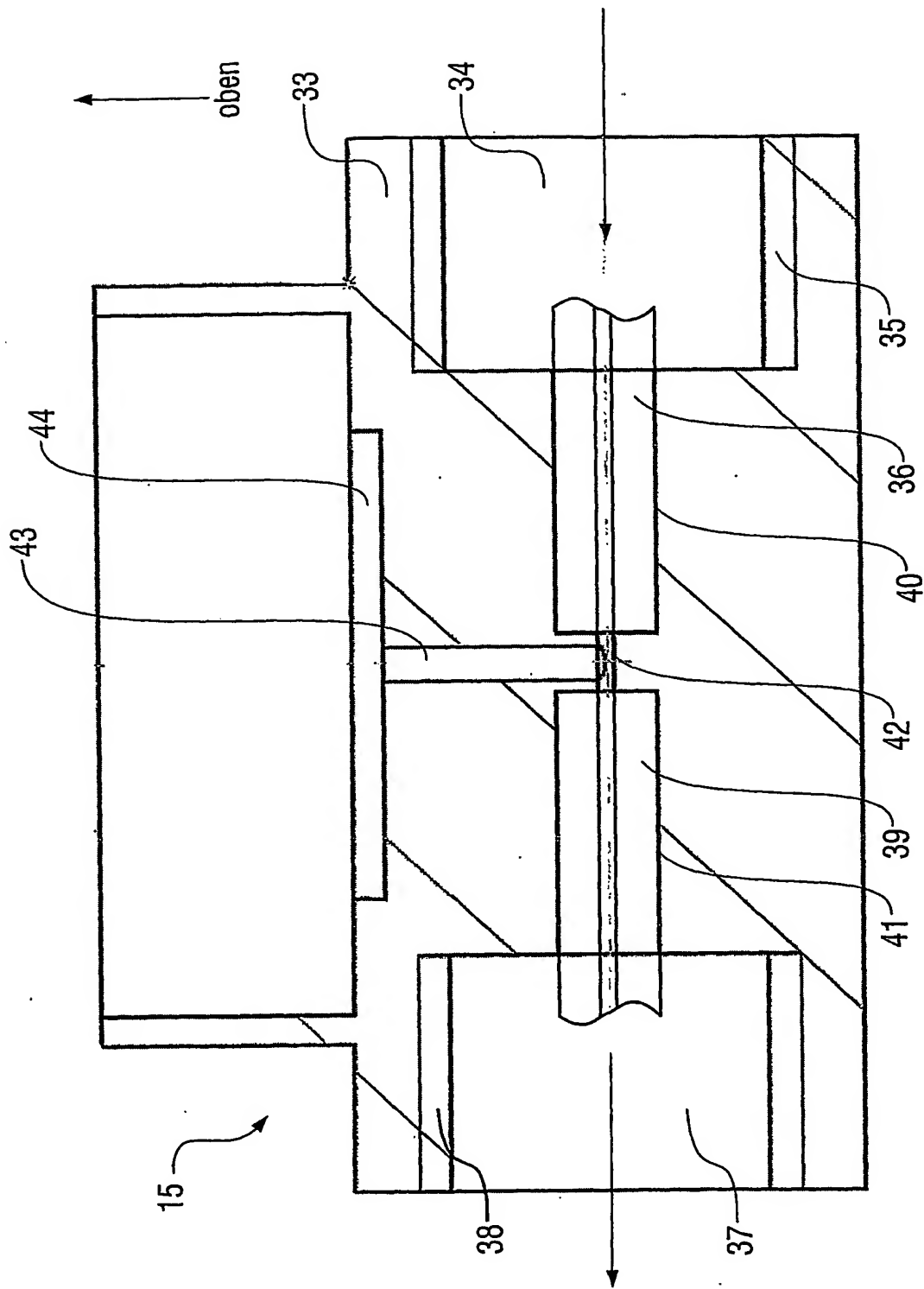


FIG 2

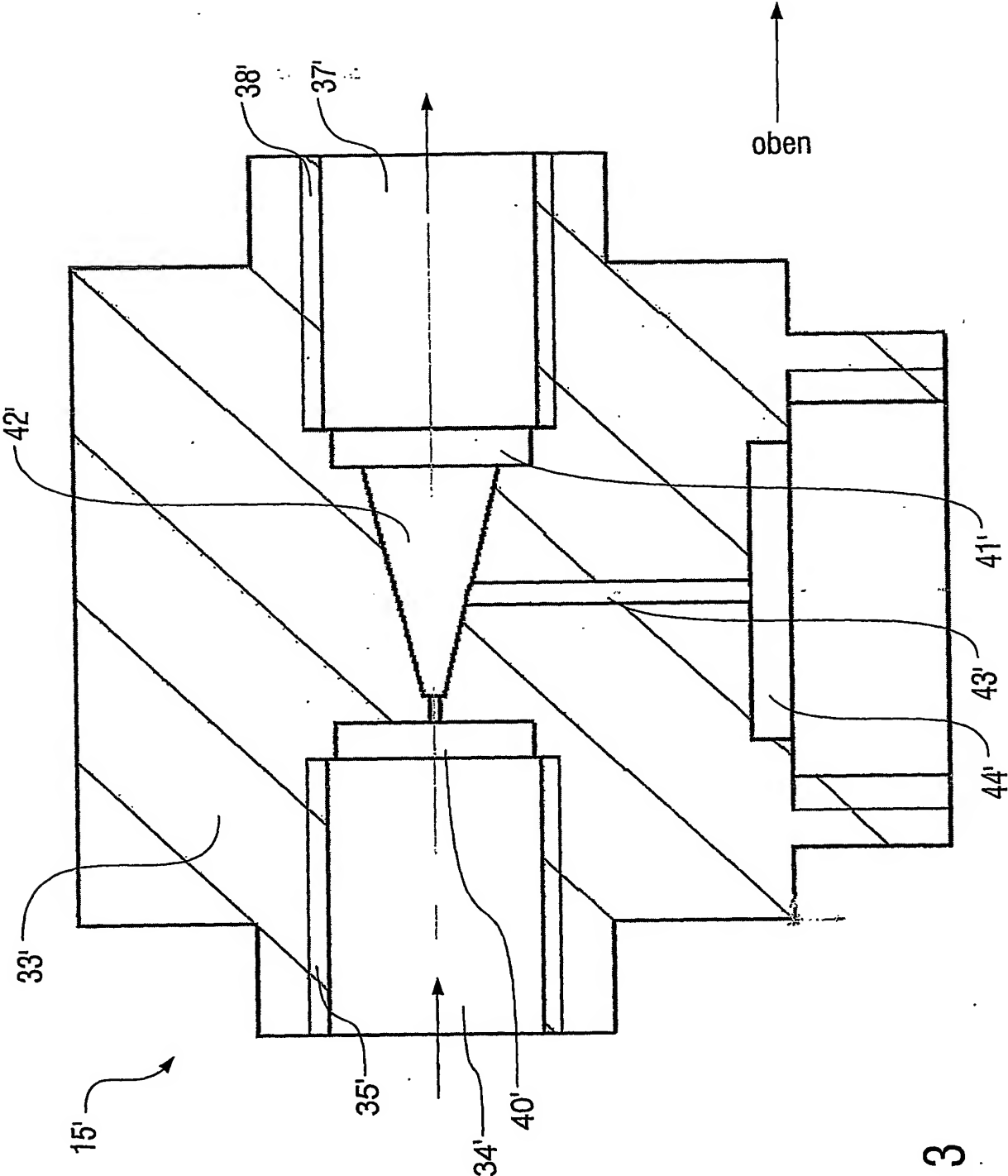


FIG 3

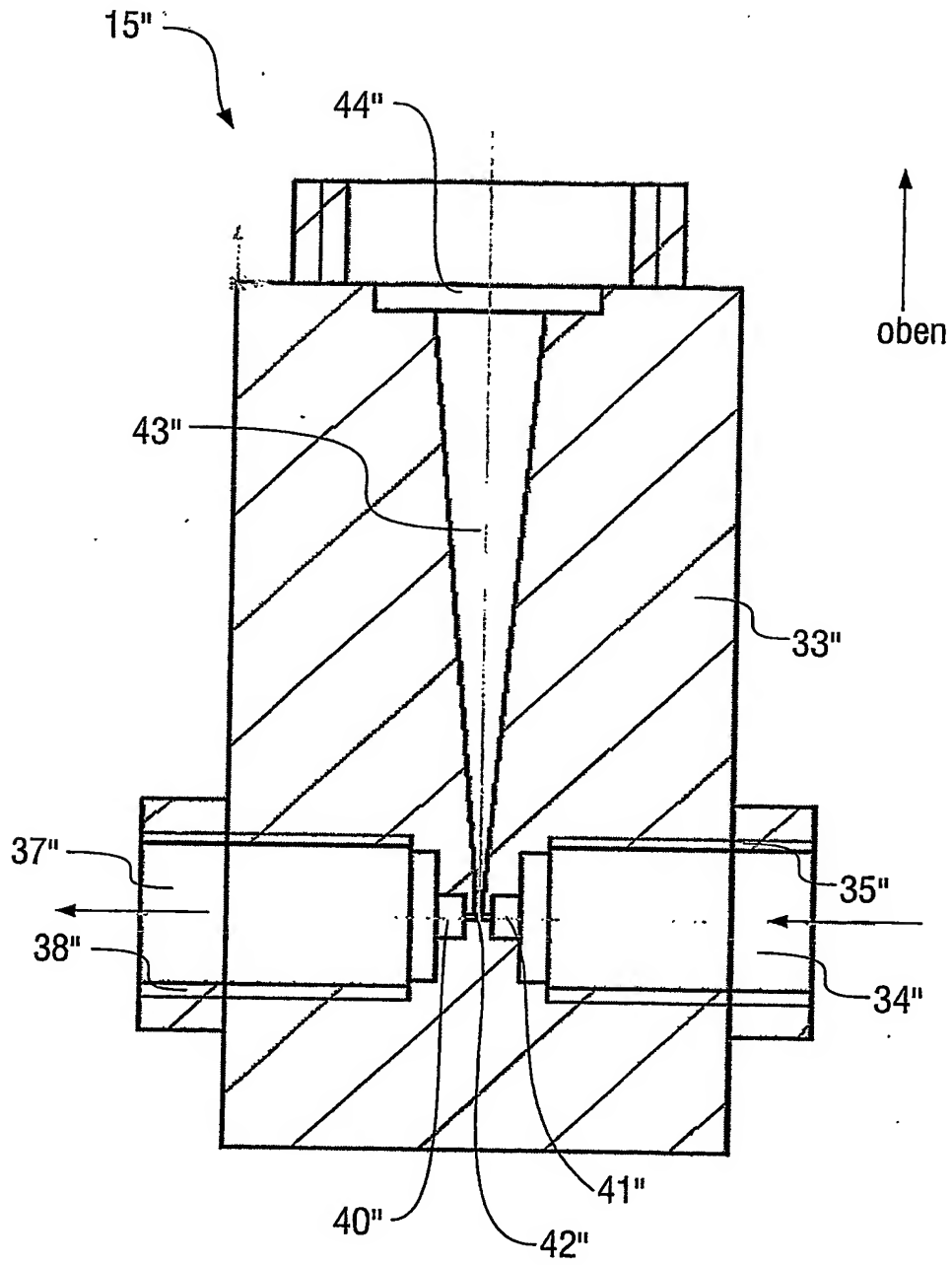


FIG 4

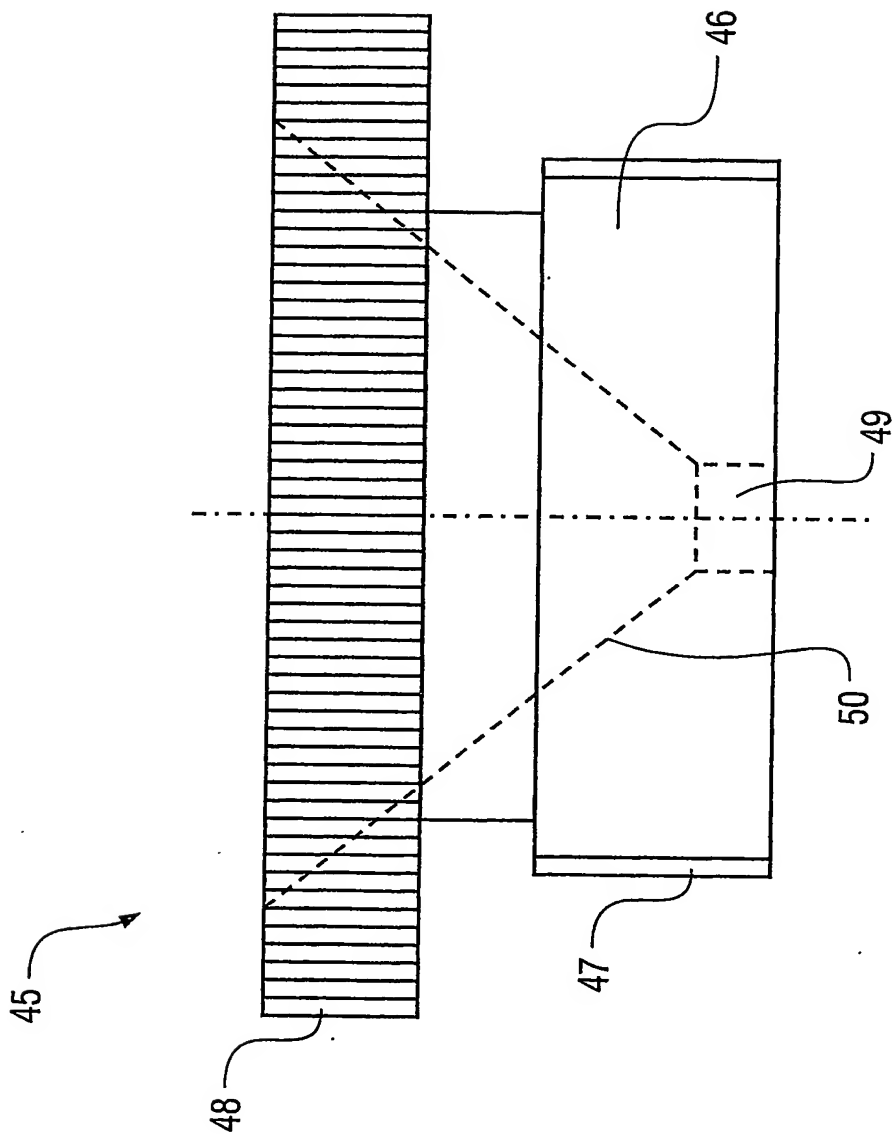


FIG 5

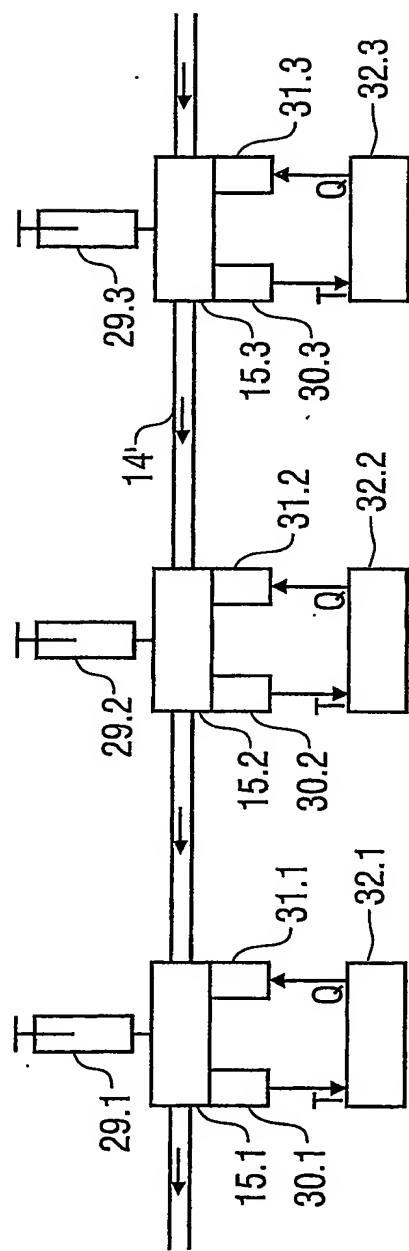


FIG 6

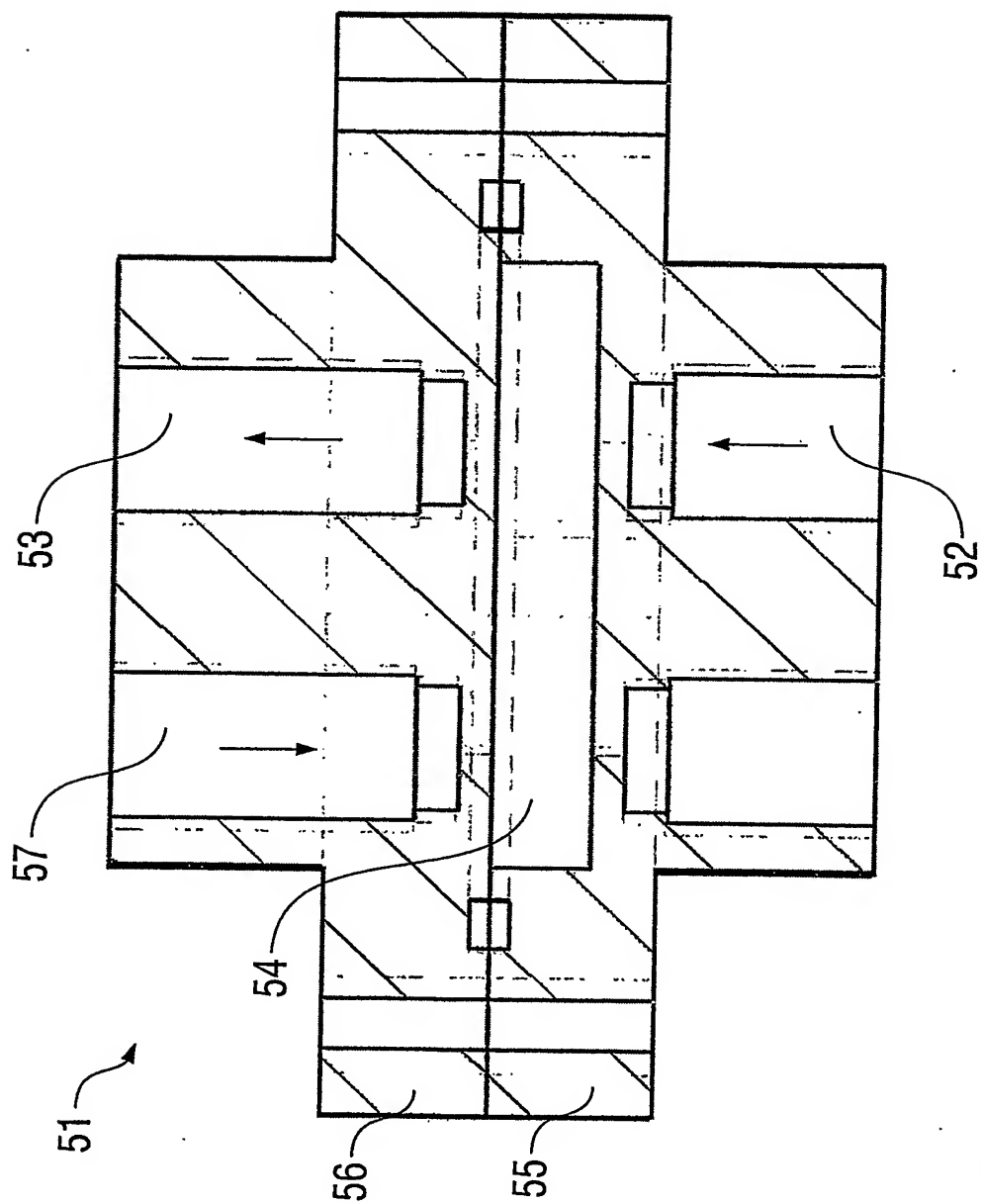


FIG 7

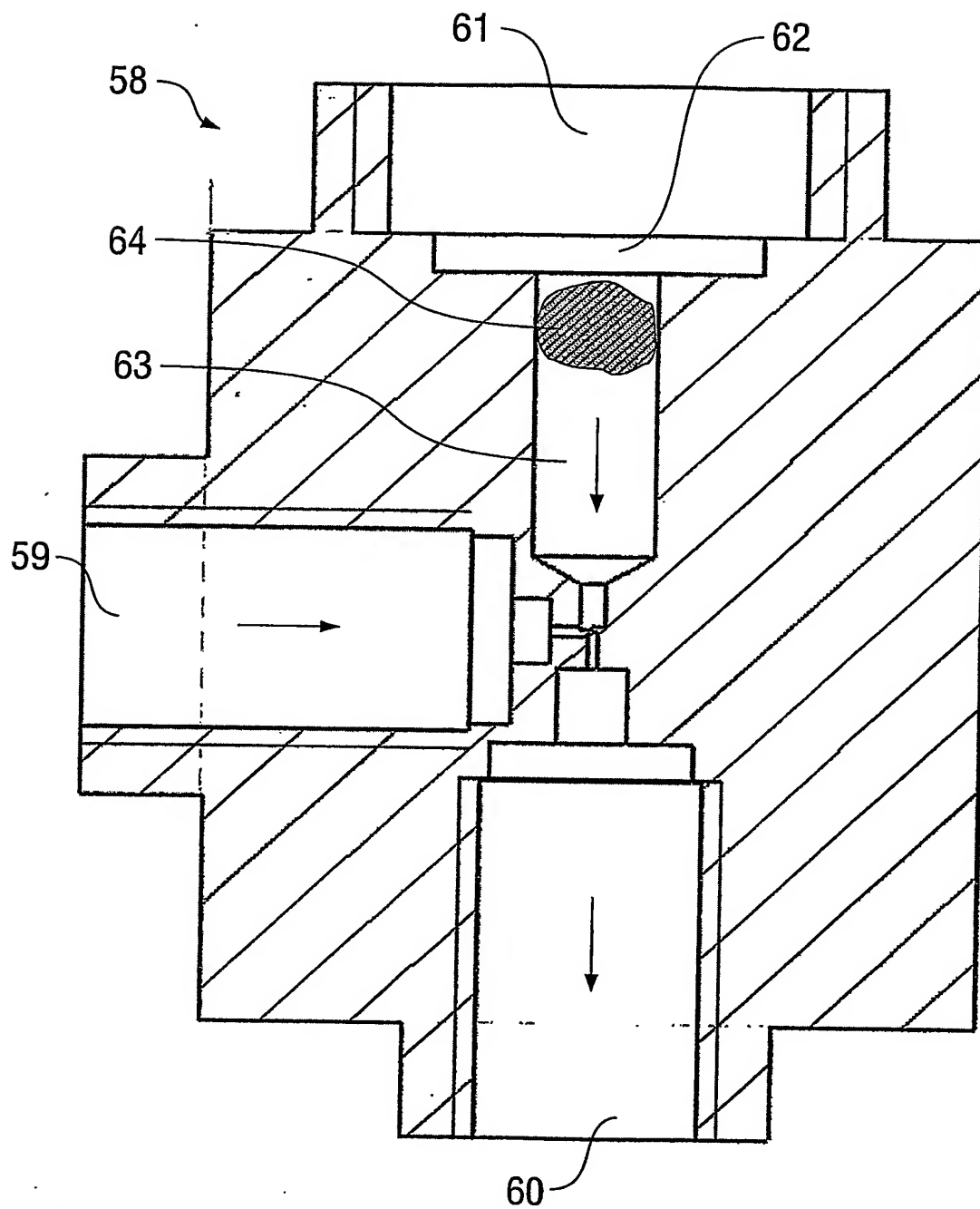


FIG 8

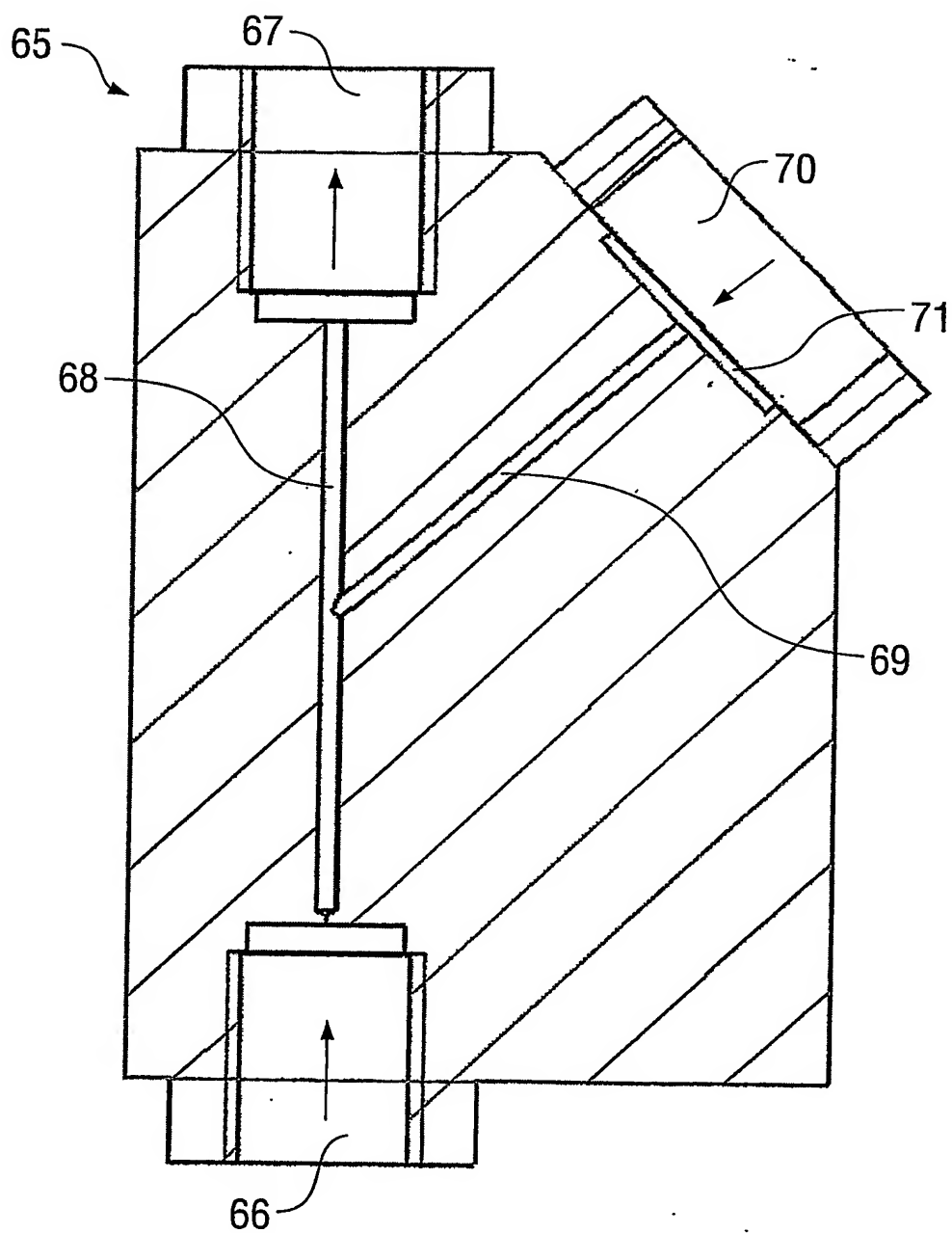


FIG 9

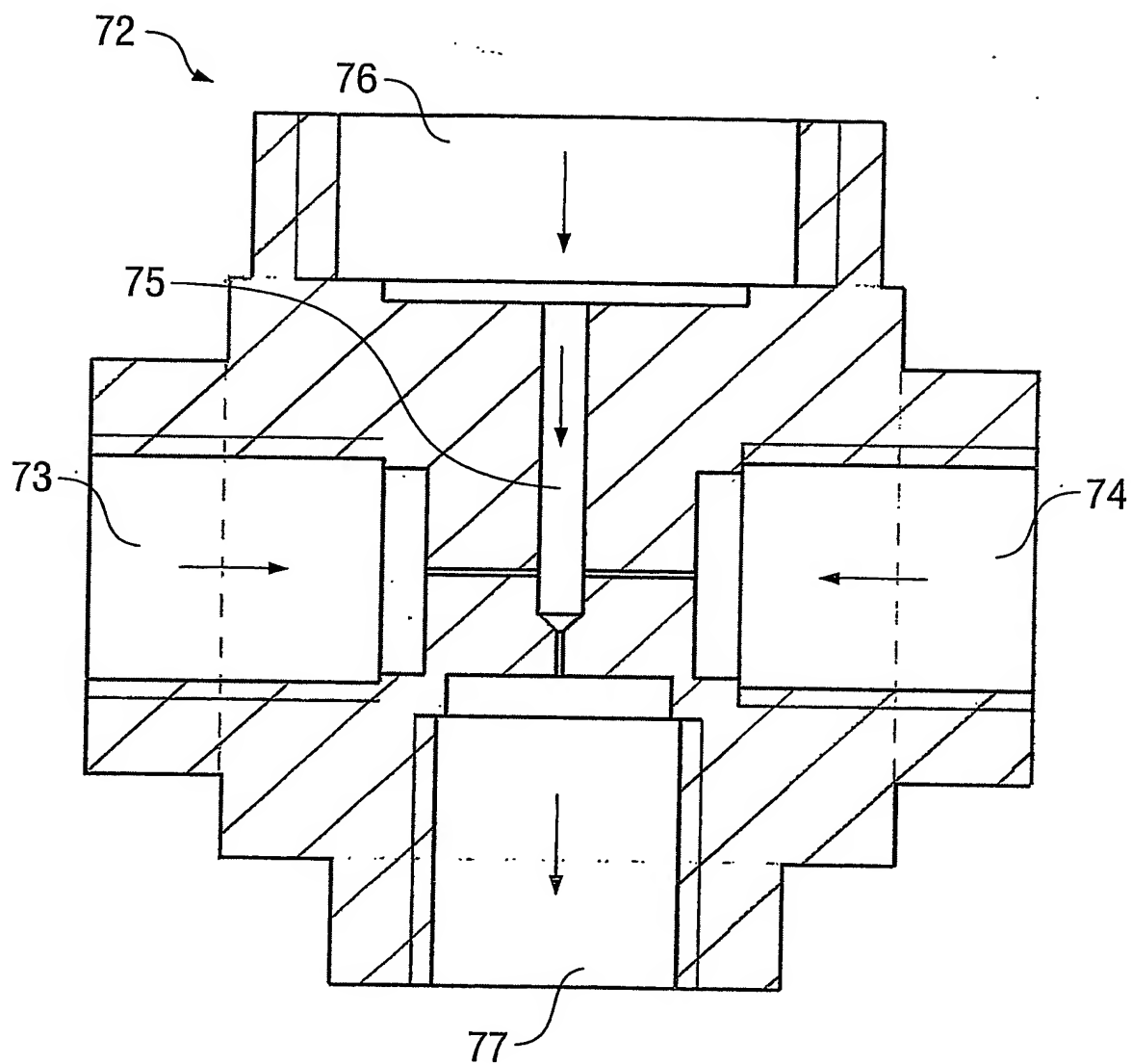


FIG 10

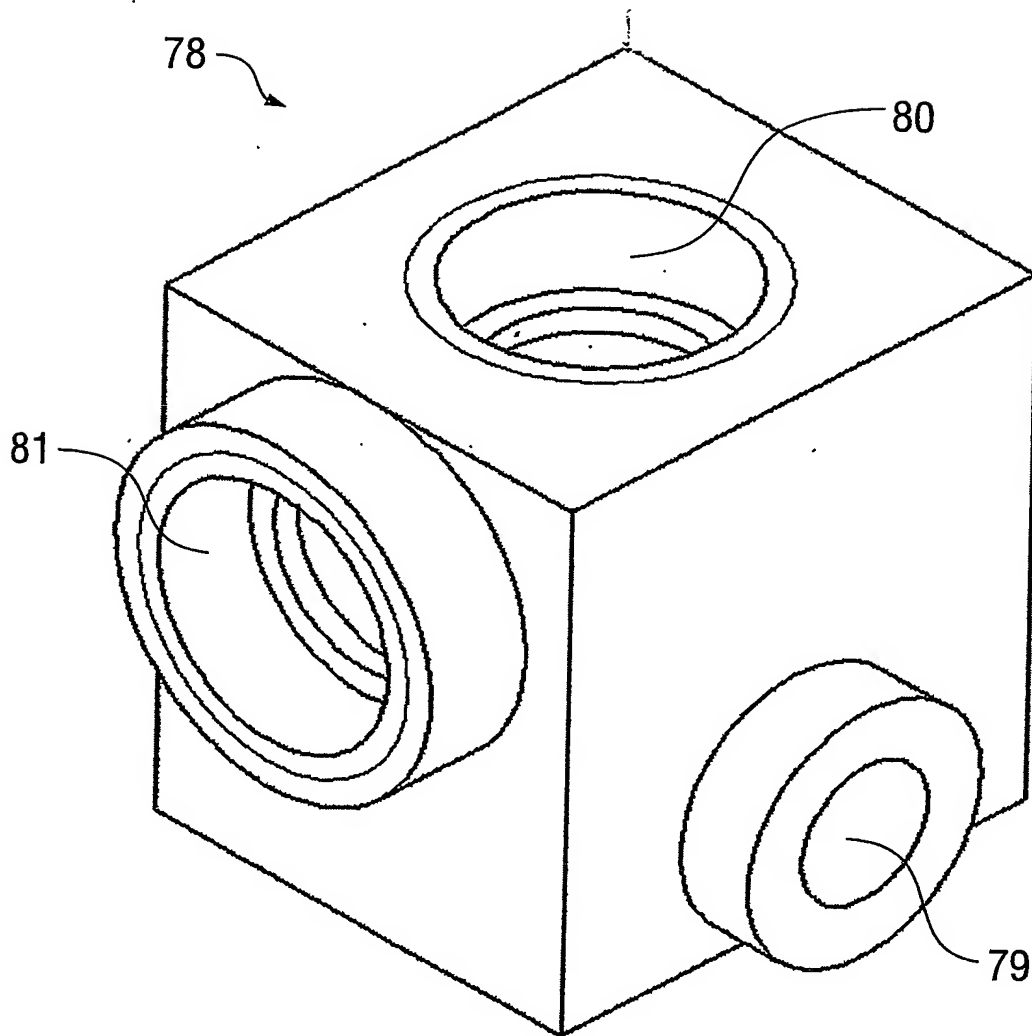


FIG 11

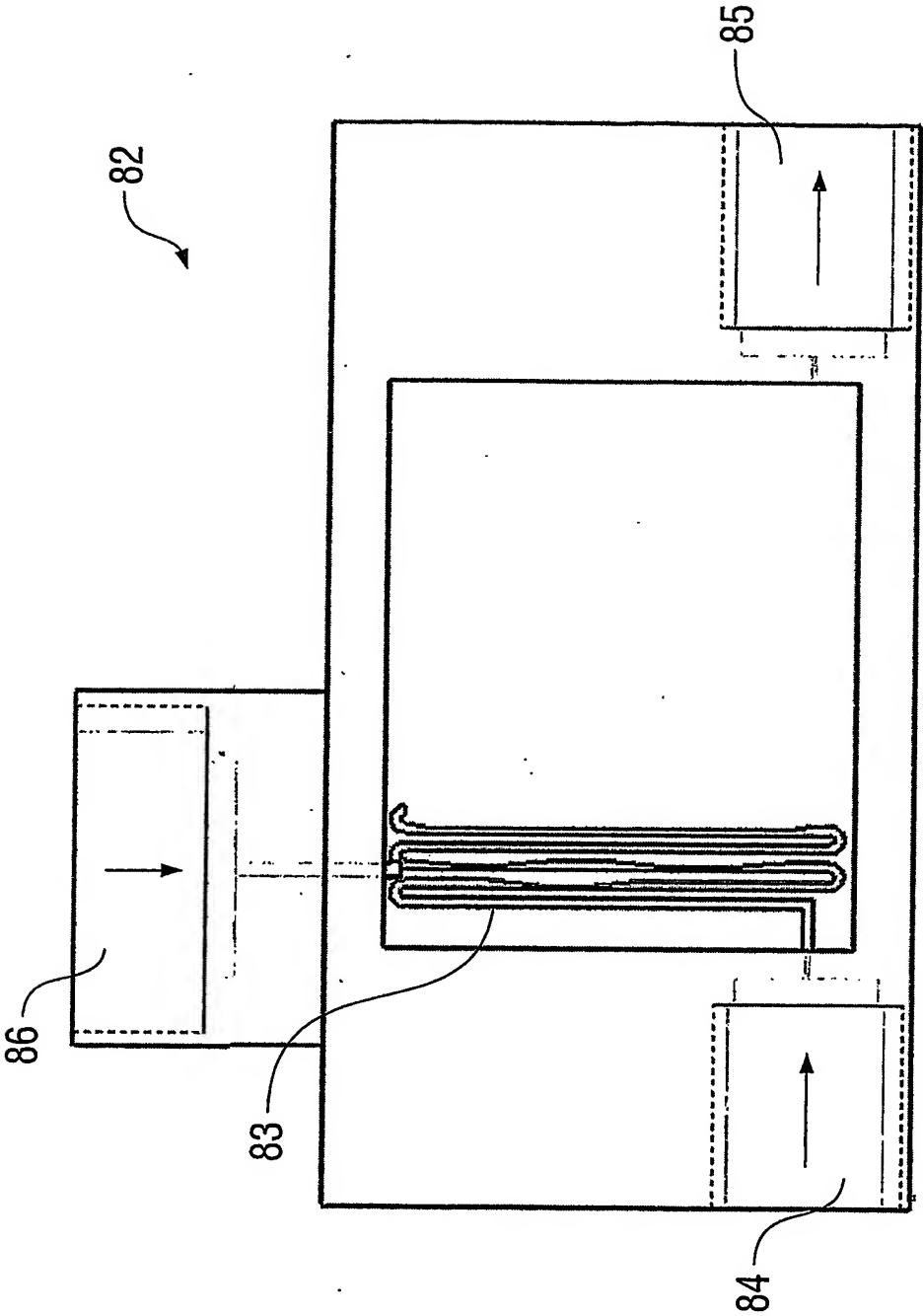


FIG 12

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N15/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 400 453 B1 (HANSEN W PETER) 4 June 2002 (2002-06-04) column 5, line 66 - column 6, line 11 column 8, line 48 - column 9, line 66 column 11, line 44 - column 12, line 42 column 14, line 17 - column 14, line 45 column 15, line 36 - column 15, line 43 figures 2-9	1, 2, 4, 7, 14, 21
Y	----- -/-	5-8, 10, 20, 26

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the International filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

8 document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

28 July 2004

Date of mailing of the International search report

09/09/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Koch, A

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	US 5 138 181 A (CHAMPSEIX HENRI ET AL) 11 August 1992 (1992-08-11) column 2, line 55 - column 3, line 18 column 3, line 66 - column 4, line 65 column 6, line 8 - column 6, line 12 column 6, line 36 - column 6, line 43 figures 1,2	5-8,10, 20,26 1,5,6,8, 10,14
X	US 2003/040105 A1 (GALLEGOS CARLOS M ET AL) 27 February 2003 (2003-02-27) paragraph '0006! paragraph '0055! paragraph '0074! - paragraph '0076! paragraph '0081! paragraph '0110! - paragraph '0111!	1-4,14, 15, 20-22,26
X	WO 02/065121 A (KEHLENBECK MARKUS ; ROTHUSZKY DAGMAR (DE); EVOTEC AG (DE); PUMP DENNI) 22 August 2002 (2002-08-22) page 2, paragraph 5 - page 5, paragraph 1 page 8, paragraphs 1,2 page 9, line 22 - page 12, line 7 figure 1 page 9, paragraph 3	1,16-19, 23-25
X	US 5 542 305 A (HOLLINGER JOHN D) 6 August 1996 (1996-08-06) column 1, line 10 - column 1, line 20 column 2, line 56 - column 2, line 65 column 5, line 18 - column 5, line 62 column 8, line 34 - column 9, line 22	1,4,5
A	US 4 954 715 A (ZOELD TIBOR) 4 September 1990 (1990-09-04) column 1, line 13 - column 1, line 32 column 1, line 65 - column 1, line 68 column 7, line 20 - column 7, line 68 column 9, line 10 - column 9, line 19 column 13, line 21 - column 13, line 23 column 13, line 30 - column 13, line 46 column 15, line 10 - column 17, line 25 figures 1a,b	1,8,14, 21,22
A	US 5 351 118 A (SPINELL MAX) 27 September 1994 (1994-09-27)	
A	WO 02/081934 A (MICRONICS INC) 17 October 2002 (2002-10-17)	

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6400453	B1	04-06-2002	US 2002033939 A1 21-03-2002
			AU 754644 B2 21-11-2002
			AU 5576499 A 14-03-2000
			CA 2341231 A1 02-03-2000
			EP 1105713 A1 13-06-2001
			JP 2002523738 T 30-07-2002
			WO 0011449 A1 02-03-2000
US 5138181	A	11-08-1992	FR 2653885 A1 03-05-1991
			AT 118888 T 15-03-1995
			AU 628679 B2 17-09-1992
			AU 6550290 A 02-05-1991
			CA 2028474 A1 28-04-1991
			DE 69017144 D1 30-03-1995
			DE 69017144 T2 22-06-1995
			DK 425381 T3 01-05-1995
			EP 0425381 A1 02-05-1991
			ES 2071061 T3 16-06-1995
			FI 102324 B1 13-11-1998
			HK 53796 A 03-04-1996
			IE 903847 A1 08-05-1991
			JP 3069795 B2 24-07-2000
			JP 3170843 A 24-07-1991
			KR 164208 B1 15-01-1999
			NO 904640 A 29-04-1991
			PT 95709 A , B 13-09-1991
			ZA 9008601 A 28-08-1991
US 2003040105	A1	27-02-2003	WO 03037491 A2 08-05-2003
			US 2003207338 A1 06-11-2003
			AU 4329501 A 20-08-2001
			WO 0159429 A1 16-08-2001
			US 2002170365 A1 21-11-2002
WO 02065121	A	22-08-2002	WO 02065121 A1 22-08-2002
			EP 1360487 A1 12-11-2003
US 5542305	A	06-08-1996	US 5437200 A 01-08-1995
			AU 6030394 A 15-08-1994
			EP 0730730 A1 11-09-1996
			JP 8505942 T 25-06-1996
			WO 9416305 A2 21-07-1994
US 4954715	A	04-09-1990	NONE
US 5351118	A	27-09-1994	AT 119667 T 15-03-1995
			AU 655181 B2 08-12-1994
			AU 7856491 A 27-11-1991
			CA 2082043 A1 05-11-1991
			DE 69108027 D1 13-04-1995
			DE 69108027 T2 14-09-1995
			WO 9117422 A1 14-11-1991
			DK 528877 T3 31-07-1995
			EP 0528877 A1 03-03-1993
			ES 2072610 T3 16-07-1995
			JP 5508910 T 09-12-1993
WO 02081934	A	17-10-2002	EP 1377811 A2 07-01-2004

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/004984

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02081934	A	EP 1377378 A2	07-01-2004
		EP 1377821 A2	07-01-2004
		WO 02081085 A2	17-10-2002
		WO 02082057 A2	17-10-2002
		WO 02081934 A2	17-10-2002
		US 2002172622 A1	21-11-2002
		US 2002149766 A1	17-10-2002
		US 2002150502 A1	17-10-2002
		US 2002148992 A1	17-10-2002
		US 2002160518 A1	31-10-2002
		US 2002159920 A1	31-10-2002
		US 2003034306 A1	20-02-2003

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 7 G01N15/14

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 IPK 7 G01N B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 6 400 453 B1 (HANSEN W PETER) 4. Juni 2002 (2002-06-04) Spalte 5, Zeile 66 - Spalte 6, Zeile 11 Spalte 8, Zeile 48 - Spalte 9, Zeile 66 Spalte 11, Zeile 44 - Spalte 12, Zeile 42 Spalte 14, Zeile 17 - Spalte 14, Zeile 45 Spalte 15, Zeile 36 - Spalte 15, Zeile 43 Abbildungen 2-9	1,2,4,7, 14,21
Y	----- -/--	5-8,10, 20,26



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

28. Juli 2004

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

09/09/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Koch, A

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y A	US 5 138 181 A (CHAMPSEIX HENRI ET AL) 11. August 1992 (1992-08-11) Spalte 2, Zeile 55 - Spalte 3, Zeile 18 Spalte 3, Zeile 66 - Spalte 4, Zeile 65 Spalte 6, Zeile 8 - Spalte 6, Zeile 12 Spalte 6, Zeile 36 - Spalte 6, Zeile 43 Abbildungen 1,2	5-8,10, 20,26 1,5,6,8, 10,14
X	US 2003/040105 A1 (GALLEGOS CARLOS M ET AL) 27. Februar 2003 (2003-02-27) Absatz '0006! Absatz '0055! Absatz '0074! - Absatz '0076! Absatz '0081! Absatz '0110! - Absatz '0111!	1-4,14, 15, 20-22,26
X	WO 02/065121 A (KEHLENBECK MARKUS ; ROTHUSZKY DAGMAR (DE); EVOTEC AG (DE); PUMP DENNI) 22. August 2002 (2002-08-22) Seite 2, Absatz 5 - Seite 5, Absatz 1 Seite 8, Absätze 1,2 Seite 9, Zeile 22 - Seite 12, Zeile 7 Abbildung 1 Seite 9, Absatz 3	1,16-19, 23-25
X	US 5 542 305 A (HOLLINGER JOHN D) 6. August 1996 (1996-08-06) Spalte 1, Zeile 10 - Spalte 1, Zeile 20 Spalte 2, Zeile 56 - Spalte 2, Zeile 65 Spalte 5, Zeile 18 - Spalte 5, Zeile 62 Spalte 8, Zeile 34 - Spalte 9, Zeile 22	1,4,5
A	US 4 954 715 A (ZOELD TIBOR) 4. September 1990 (1990-09-04) Spalte 1, Zeile 13 - Spalte 1, Zeile 32 Spalte 1, Zeile 65 - Spalte 1, Zeile 68 Spalte 7, Zeile 20 - Spalte 7, Zeile 68 Spalte 9, Zeile 10 - Spalte 9, Zeile 19 Spalte 13, Zeile 21 - Spalte 13, Zeile 23 Spalte 13, Zeile 30 - Spalte 13, Zeile 46 Spalte 15, Zeile 10 - Spalte 17, Zeile 25 Abbildungen 1a,b	1,8,14, 21,22
A	US 5 351 118 A (SPINELL MAX) 27. September 1994 (1994-09-27)	
A	WO 02/081934 A (MICRONICS INC) 17. Oktober 2002 (2002-10-17)	

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 6400453	B1	04-06-2002	US 2002033939 A1 21-03-2002
		AU 754644 B2 21-11-2002	
		AU 5576499 A 14-03-2000	
		CA 2341231 A1 02-03-2000	
		EP 1105713 A1 13-06-2001	
		JP 2002523738 T 30-07-2002	
		WO 0011449 A1 02-03-2000	
US 5138181	A	11-08-1992	FR 2653885 A1 03-05-1991
		AT 118888 T 15-03-1995	
		AU 628679 B2 17-09-1992	
		AU 6550290 A 02-05-1991	
		CA 2028474 A1 28-04-1991	
		DE 69017144 D1 30-03-1995	
		DE 69017144 T2 22-06-1995	
		DK 425381 T3 01-05-1995	
		EP 0425381 A1 02-05-1991	
		ES 2071061 T3 16-06-1995	
		FI 102324 B1 13-11-1998	
		HK 53796 A 03-04-1996	
		IE 903847 A1 08-05-1991	
		JP 3069795 B2 24-07-2000	
		JP 3170843 A 24-07-1991	
		KR 164208 B1 15-01-1999	
		NO 904640 A 29-04-1991	
		PT 95709 A ,B 13-09-1991	
		ZA 9008601 A 28-08-1991	
US 2003040105	A1	27-02-2003	WO 03037491 A2 08-05-2003
		US 2003207338 A1 06-11-2003	
		AU 4329501 A 20-08-2001	
		WO 0159429 A1 16-08-2001	
		US 2002170365 A1 21-11-2002	
WO 02065121	A	22-08-2002	WO 02065121 A1 22-08-2002
		EP 1360487 A1 12-11-2003	
US 5542305	A	06-08-1996	US 5437200 A 01-08-1995
		AU 6030394 A 15-08-1994	
		EP 0730730 A1 11-09-1996	
		JP 8505942 T 25-06-1996	
		WO 9416305 A2 21-07-1994	
US 4954715	A	04-09-1990	KEINE
US 5351118	A	27-09-1994	AT 119667 T 15-03-1995
		AU 655181 B2 08-12-1994	
		AU 7856491 A 27-11-1991	
		CA 2082043 A1 05-11-1991	
		DE 69108027 D1 13-04-1995	
		DE 69108027 T2 14-09-1995	
		WO 9117422 A1 14-11-1991	
		DK 528877 T3 31-07-1995	
		EP 0528877 A1 03-03-1993	
		ES 2072610 T3 16-07-1995	
		JP 5508910 T 09-12-1993	
WO 02081934	A	17-10-2002	EP 1377811 A2 07-01-2004

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 02081934 A		EP 1377378 A2	07-01-2004
		EP 1377821 A2	07-01-2004
		WO 02081085 A2	17-10-2002
		WO 02082057 A2	17-10-2002
		WO 02081934 A2	17-10-2002
		US 2002172622 A1	21-11-2002
		US 2002149766 A1	17-10-2002
		US 2002150502 A1	17-10-2002
		US 2002148992 A1	17-10-2002
		US 2002160518 A1	31-10-2002
		US 2002159920 A1	31-10-2002
		US 2003034306 A1	20-02-2003